

〔 193 〕		
氏名	大	月 要
授与した学位	博	士
専攻分野の名称	歯	学
学位授与番号	博甲第 1450 号	
学位授与の日付	平成8年3月25日	
学位授与の要件	歯学研究科歯学専攻（学位規則第4条第1項該当）	
学位論文題名	ヒト口腔扁平上皮癌におけるnm23/NDPKキナーゼの発現様式と頸部リンパ節転移に関する研究	
論文審査委員	教授 松村智弘 教授 滝川正春 教授 永井教之	

学位論文内容の要旨

【緒言】

NDPKキナーゼ（NDPK）はnm23の遺伝子産物である。この遺伝子は当初癌転移抑制遺伝子として分離され、腫瘍の転移能との関係が検討されてきたが、腫瘍の発生母地の相違により正あるいは負といった異なる相関関係が報告されており、未だ定まった見解が得られていない。これは腫瘍の発生母地となる組織によりnm23/NDPKの発現様式が異なることとnm23/NDPKに存在する2つのアイソザイムの生物学的機能の詳細が明らかではないことなどに起因すると思われる。そこで本研究では初めに口腔粘膜上皮組織におけるnm23/NDPKの発現様式を検討した上でヒト口腔扁平上皮癌におけるnm23/NDPKの発現について検索を行い、NDPKの免疫組織化学的検索法が治療指針あるいは頸部リンパ節転移予測の補助手段となり得るか否かについて検討した。

【方法】

1. 口腔粘膜上皮組織におけるnm23/NDPKの発現

口腔粘膜上皮組織でのNDPKの発現様式をラット・ヒトの舌粘膜上皮組織のパラフィン切片と各アイソザイムに特異的なモノクローナル抗体を使用した免疫染色を行い検討した。なお、ラットNDPK α とヒトNDPK Bが98%、そしてラットNDPK β とヒトNDPK Aは95%の相同性をそれぞれ示すことが報告されており、ラットNDPK α モノクローナル抗体はヒトNDPK B、ラットNDPK β モノクローナル抗体はヒトNDPK Aを認識できる。またラットについては併せて各アイソザイムに特異的なcDNA部位を鋳型としたRNAプローブを用いてin situ hybridizationを行い、mRNAレベルでの発現を検討した。

2. ヒト口腔扁平上皮癌培養細胞におけるnm23/NDPKの発現

nm23/NDPKの各アイソザイムの口腔扁平上皮癌における発現様式を検討するため、ヒト口腔扁平上皮癌培養細胞(HSC2・HSC3・HSC4)を対象にそれぞれ増殖期と定常期におけるnm23 mRNAの発現をRT-PCR法を用い、NDPKの各アイソザイムの発現をWestern blotting法を用いて比較検討した。

3. ヒト口腔扁平上皮癌組織におけるNDPKの発現

当科を1983年から1995年までに受診し、外科的切除並びに頸部郭清術を施行し、転移の有無を確認した56症例を対象とし、10%中性緩衝ホルマリン固定のパラフィン切片を用い各NDPKの免疫染色を行い、その発現と臨床病理組織学的諸因子ならびに頸部リンパ節転移との関係を検討した。なお統計学的処理は χ^2 検定を用いた。

【結果】

ラット舌粘膜上皮におけるNDPKの mRNA発現は両アイソザイム共に基底細胞層を中心に有棘細胞層の一部にまでシグナルが観察されるが、蛋白発現はアイソザイム間で異なる発現パターンを認め、NDPK α 型 (ヒトNDPK B) は有棘細胞層にはほぼ一様に弱く発現するが、NDPK β 型 (ヒトNDPK A) は有棘細胞層の表層側に限局して強い発現を認めた。ヒトの舌組織でも同様の傾向を示し、NDPK Aが上皮細胞において有棘細胞層相当部の表層側への移行につれて蛋白発現が次第に著明となるのに対し、NDPK Bの発現は比較的均一であった。

扁平上皮癌の培養細胞を用いた検討ではNDPK Aの方が細胞種による発現様式の違いが著明で、mRNAの発現は増殖期で高い傾向を示したが蛋白レベルで増殖期では逆に低いもの (HSC2・HSC3) と増殖期においても高い発現を示すもの (HSC4) が認められた。これに対してNDPK B はいずれの細胞においても増殖期と定常期での発現量の差は認められず、NDPK B発現の均一性は扁平上皮癌でも認められた。

ヒト口腔扁平上皮癌症例での検討においてもNDPK Aについては症例により多様な染色所見が認められ、NDPK A 陽性群では頸部リンパ節転移の頻度が少なく ($P<0.01$)、さらにこの相関は比較的早期の症例 (T1・T2症例) でも認められた ($P<0.05$)。また、NDPK A陽性群は高分化型の扁平上皮癌に多く認められた。これに対しNDPK Bの発現は均一な染色性を示すものが多く、臨床病理組織学的諸因子との間に相関は認められなかった。

【考察】

口腔扁平上皮癌組織においてNDPK Aは上皮細胞の増殖・形態の変化と密接な蛋白発現様式を持ち、扁平上皮癌においては蛋白発現の誘導ならびに抑制が起きているのに対して、NDPK Bの蛋白発現は正常上皮においても扁平上皮癌においても恒常的であることが示唆された。そしてNDPK Aの発現が口腔扁平上皮癌の転移能の抑制に関与しており、早期の口腔癌症例からの頸部リンパ節転移の予測が可能となることが示唆された。これらのことより臨床における口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移の可能性の有無の予測法としてNDPK A (nm23H1蛋白) の免疫組織化学的検索が有用であることが示唆された。

論文審査結果の要旨

NDPキナーゼは癌転移に関連した遺伝子として分離同定されたnm23遺伝子の遺伝子産物であることが確認されている。

本研究は、口腔重層扁平上皮ならびに口腔扁平上皮癌におけるNDPキナーゼの2つのアイソフォームのmRNAおよび蛋白レベルの発現様式の検索を行い、さらに癌転移との関係を明らかにし、NDPキナーゼの免疫組織化学的検索法が臨床での頸部リンパ節転移の有無の予測因子になり得るか否かについて検討したものである。

口腔扁平上皮においてNDPキナーゼA (nm23 H1 protein homologue) が有棘細胞層の表層側の移行に伴い強い発現を認められるのに対して、NDPキナーゼB (nm23 H2 protein homologue) は比較的均一な発現が認められた。口腔扁平上皮癌における検討ではNDPキナーゼAがmRNAならびに蛋白発現レベルにおいて多様性が認められるのに対して、NDPキナーゼBでの発現様式は恒常的であることが示唆された。また、NDPキナーゼAの染色所見と頸部リンパ節転移との間に負の相関が認められ、さらに早期の口腔癌症例からの頸部リンパ節転移の予測が可能なが示唆された。

これらの知見は、口腔扁平上皮癌におけるNDPキナーゼAの発現が新たな頸部リンパ節転移の有無の予測判定の一因子となり得ることを示したもので臨床的に有意義な業績であり、本論文を博士（歯学）の学位論文として価値あるものと認めた。